T. N. Pathak

1971

Aus der Frauenklinik der Universität des Saarlandes
Homburg/Saar
Direktor: Professor Dr. med. H. LIMBURG

---

# ÜBER DEN EINFLUß VON SCHWANGERSCHAFT UND OESTROGENBEHANDLUNG AUF DAS WACHSTUM MALIGNER TUMOREN.

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N
zur Erlangung der Doktorwürde der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

1971

vorgelegt von
Trilochan N. Pathak
geb. am 26. 4. 1937 in Ahmedabad/Indien

DEKAN: Professor Dr. med. H. KULENKAMPFF
REFERENT: Privatdozent Dr. med. U. HECKMANN

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Promotionsdatum: 17.12.1971

INHALTSVERZEICHNIS


| | Seite |
|---|---|
| EINLEITUNG | 1 |
| MATERIAL UND METHODE | 4 |
| ERGEBNISSE | 19 |
| DISKUSSION | 25 |
| ZUSAMMENFASSUNG | 3o |
| LITERATUR | 31 |

# EINLEITUNG

Die intensive experimentelle Krebsforschung in aller Welt hat in den letzten Jahren neue Erkenntnisse über zahlreiche krebsauslösende Faktoren gebracht. Erstmals gelang es im Jahre 1914 den Japanern YAMAGIWA und ICHIKAWA (65) im Tierversuch durch langdauernde Bepinselung des Kaninchenohrs mit Steinkohlenteer Krebs zu erzeugen. In den folgenden Jahren wurden die Tumoren bei fast allen Tierarten bis zu den Insekten experimentell erzeugt. Inzwischen sind mehr als 5oo chemische krebserzeugende Substanzen in der Umgebung des Menschen bekannt (29). Für den Umweltschutz sind polyzyklische, aromatische Kohlenwasserstoffe - wie 3,4-Benzpyren - in Ruß, Steinkohlenteer, Autoabgasen und Zigarettenrauch von aktueller Bedeutung.

Die Auslösung von Krebs - abgesehen von einigen wenigen endogenen Noxen - wird im wesentlichen von drei exogenen Faktoren verursacht (29). Die physikalischen Faktoren, wie Röntgenstrahlen, die Strahlung radioaktiver Substanzen und die UV-Strahlen bilden die erste Gruppe. Zur zweiten Gruppe gehören die größte Anzahl der Carcinogene, die man als chemische Faktoren bezeichnet. Als dritte Gruppe sind schließlich biologische Faktoren, nämlich gewisse Virusarten wie Polyoma und Adenovirus 16 und andere für die Entstehung von Tumoren bei bestimmten Tiergruppen verantwortlich.

Für die Prophylaxe der Krebskrankheit ist neben der Suche nach neuen onkogenen Umweltbelastungen (6o) die Kenntnis quantitativer Beziehungen einer chemischen Substanz zur Genese des Krebswachstums und ihre Beeinflußbarkeit durch natürliche Lebensvorgänge, wie Schwangerschaft oder Hormoneinwirkungen, von besonderem Interesse. Neben Enzymen und Vitaminen sind die Hormone für die Aufrechterhaltung von Wachstum und Stoffwechsel unentbehrlich. Während es aber bei den Vitaminen weder einen charakteristischen Antagonismus noch Synergismus gibt, besteht zwischen allen Hormonen engste Funktionskorrelation (3).

Der Wirkungsgradient der einem Versuchstier gegebenen Hormondosis ist im Vergleich zum in vitro Versuch nicht konstant. Er wird beeinflußt von verschiedenen Faktoren, einmal von dem tiereigenen inkretorischen System, dann von der Leber als metabolischem Zentrum und schließlich von der Funktion des enterohepatischen Kreislaufes, der bereits durch die Galle ausgeschiedene, noch wirksame Substanzen dem Organismus zurückführen kann. Gleichzeitig spielen auch die Durchblutungsverhältnisse im Tier eine Rolle, da sie als Transportweg zusammen mit dem Fettbestand die Verteilung der Hormone beeinflussen und mit den Nieren die Ausscheidung bestimmen (62). Wie der menschliche ist auch der tierische Organismus in der Lage, Hormone auf verschiedenen Wegen abzubauen. Die Abbaustufen der Hormone und die pharmakologische

Wirkung dieser Intermediärprodukte sind zum Teil noch unbekannt.

In der vorliegenden Arbeit sollte die Abhängigkeit der Carcinogenese von unterschiedlichen Konzentrationen der polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe: 3,4-Benzpyren und 7,12-Dimethylbenzanthrazen und die Beeinflußbarkeit des Tumorwachstums durch Schwangerschaft und Oestrogenbehandlung im Tierexperiment untersucht werden.

## MATERIAL UND METHODE

Die Untersuchungen wurden an insgesamt 633 Wistar-Ratten eines homozygoten Inzuchtstammes durchgeführt. Nach 1o Bruder-Schwester Generationen wird eine Homozygotie von 91,3 % und nach 25 Generationen von 99,6 % erreicht (3). Das Versuchsgut entspricht schließlich weitgehend den eineiigen Zwillingen beim Menschen, nur mit dem Unterschied, daß bei Zwillingen nur zwei, bei Inzuchtstämmen aber beliebig viele reinerbige Individuen zur Verfügung stehen. Die ursprüngliche Variabilität der Tiere ist damit völlig ausgeschaltet.

Bei unseren Untersuchungen wurde der sogenannte BD-II-Stamm (BERLIN-DRUCKREY) verwendet, den 195o DRUCKREY (24) aus Albino-Ratten des Wistar-Stammes durch Bruder-Schwester Inzucht entwickelte.

Nach DRUCKREY, DANNEBERG und DISCHLER (25) hat dieser Stamm die folgende Erbformel:

cc PP aa hh

"cc" stellt den rezessiven 'Chromogen-Faktor' dar. Dies soll heißen, daß die Tiere mit den rezessiven Faktoren "cc" Albinos sind, die rubinfarbene Augen bedingen.

Der zweite Faktor "PP" bedeutet einen dominanten Faktor, welcher das dunkle, jedoch nicht das gelbe Pigment unterdrückt. Er führt zur Pigmentierung der Augen und bestimmt am Haarkleid die Farbtiefe.

Der dritte Faktor "aa" ist der rezessive 'Wildfarben-(Agouti) Faktor'. Er unterdrückt die Bildung von gelben und schwarzen Pigmenten.

Schließlich der vierte und letzte Faktor "hh" ist ein rezessiver Faktor für Haubenscheckung. Er verursacht bei farbigen Ratten das Haubenmuster, dessen Ausmaß verschieden groß sein kann.

Das mittlere Tiergewicht betrug 22o Gramm und das Durchschnittsalter 4 Monate.

Futter

Die Versuchstiere erhielten eine konstante und ihren Bedürfnissen angepasste Ernährung.

Unsere Ratten wurden mit ALTROMIN R-Diät ernährt (9,44). Dieses spezielle Futter wird von der Firma ALTROGGE in Lage-Lippe hergestellt. Es hat die folgende Zusammensetzung:

| | |
|---|---|
| Protein | 19,2 % |
| Fett | 4,2 % |
| Faser | 5,3 % |
| Asche | 6,5 % |
| N-freie Extraktstoffe | 54,2 % |
| $H_2O$ | 1o,8 % |

Dieses Futter enthält außerdem Vitamine und Mineralien. Die Ratten erhielten Trinkwasser ad libitum. Die Wasserbehälter waren mit einer Saugvorrichtung ausgerüstet, die zu jeder Zeit eine Versorgung mit Trinkwasser gewährleistete.

Pflege

1) Käfige

Die Ratten wurden in Plastikkäfigen untergebracht. Als Einstreumaterial wurden Hobelspäne benutzt. Es wurden je 6 bis 1o Rattenmännchen, je nach Größe des Käfigs,untergebracht. Wir hielten je zwei,beziehungsweise drei Rattenweibchen in einem Käfig. Die schwangeren Weibchen wurden in Einzelkäfige gesetzt, wo sie besonders gut gepflegt und beobachtet werden konnten.

2) Zuchtraum

Die Tiere wurden in hellen,sauberen Räumen untergebracht. Es wurde eine Raumtemperatur von 22 $\pm$ 2° C und eine rela-

tive Luftfeuchtigkeit von etwa 45 bis 55 % aufrechterhalten. Durch einen Ventilator wurde für dauernden Abzug der verbrauchten Luft gesorgt.

Konzentration und Applikation carcinogener Substanzen

3,4-Benzpyren und 7,12-Dimethylbenzanthracen wurden in 1,2 und 3 %igen Konzentrationen angewandt. Als Lösungsmittel diente Olivenöl. Die Applikation erfolgte subcutan in den Oberschenkel.

An den schwangeren Tieren wurde die Impfung von der carcinogenen Substanz 48 Stunden nach der Paarung vorgenommen. Konjugierte Oestrogene (PRESOMEN, Kali-Chemie) wurden in einer Dosierung von o,27 mg/kg Tiergewicht einmal pro Woche durch die Schlundsonde oral über den gesamten Untersuchungszeitraum verabreicht.

Die Induktionszeit umfaßt den Zeitraum von der Impfung des Carcinogens bis zum Auftreten einer palpatorisch nachweisbaren, histologisch gesicherten Tumorbildung von 1o mm Durchmesser. Abbildung 1 zeigt eine Ratte mit 3,4-Benzpyren erzeugtem sarkomatösem Tumor, Abbildung 2 das Histologie-Schnittbild (Spindelzell-Sarkom).

( Abbildung 1 )

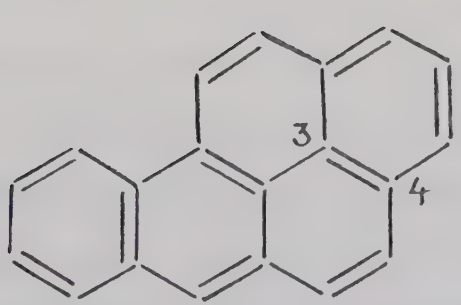
( Abbildung 2 )

## Biochemie der carcinogenen Substanzen

### 1) 3,4-Benzpyren

HIEGER (3o, 31, 32) isolierte 3,4-Benzpyren erstmalig aus dem Steinkohlenteerpech durch die fraktionierte Destillation. Diese neue Substanz erwies sich als stärkst wirksames krebserzeugendes Agens des Teers (13, 14, 15). Es ist von orangegelber Farbe und in Fett löslich. Unter Verwendung von Desoxycholsaurem Natrium kann man es auch wasserlöslich machen (63). Es durchdringt semipermieable Wände und ist durch seine UV-Fluorescenz im Gewebe leicht verfolgbar (8). Unverändert gelangt es bis in die Zellkerne (11, 12).

### Chemische Struktur des 3,4-Benzpyrens



Die carcinogene Wirkung des Teers ist direkt proportional ihrem Gehalt an Benzpyren (54, 58). Am stärksten ist die Wirkung von Benzpyren bei Verabreichung in Schweinefett, gleichviel ob bei subcutaner Injektion (55) oder bei Fütterung. Als günstigste Konzentration können die Lösungen von o,2 bis o,5 % angesehen werden (63). Als Dosis minima können schon wenige Gamma zur Krebserzeugung genügen.

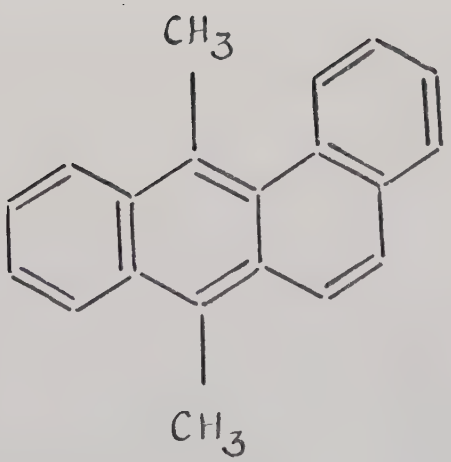
Die Zeit bis zur Neubildung eines Tumors, die Induktionszeit, hängt von der angewandten Konzentration ab. Für o,5 % Benzpyren beträgt die Entstehungszeit 7o Tage und für Konzentrationen unter o,1 % wurden wesentlich verlängerte Zeiten beobachtet (63).

2) 7,12-Dimethylbenzanthracen

Diese carcinogene Substanz ist ein polyzyklischer aromatischer Kohlenwasserstoff (s. Abb. 3 ), die im Tierversuch bei der Ratte besondere Wirkungen aufweist. Bei einmaliger Fütterung von DMBA erlitten die Ratten Durchfälle und gastrointestinale Blutungen (17, 18, 19). Außerdem traten Appetitlosigkeit und Gewichtsverlust auf. Das Blutbild zeigte eine Leukopenie für die Dauer von 1o Tagen an. Im Jahre 1961 entdeckten HUGGINS und MORII (41), daß DMBA bei den Ratten nicht nur Mamma-Tumoren, sondern auch Nebennieren-Nekrosen oder Schlaganfälle verursachen. Die zuletzt erwähnten Symptome treten ausschließlich bei

Gabe von DMBA oder seinem einzigen Stoffwechselprodukt: 7-Hydroxymethyl-12-methylbenzanthracen (7-OHMMBA) auf (7). Die restlichen Stoffwechselprodukte des DMBA, wie 7,8,12-Trimethylbenzanthracen und 7-Hydroxymethyl-benzanthracen, sind inaktiv.

Chemische Struktur des 7,12-DMBA




( Abbildung 3 )

Die weiteren Wirkungen des DMBA

a) Im Vergleich zu den anderen carcinogenen Substanzen beschleunigt DMBA das Tumor-Wachstum bei Ratten, Mäusen und Kaninchen (5o, 51).

b) In vivo geht DMBA, verglichen mit anderen Kohlenwasserstoffen, in größerem Maße chemische Verbindungen mit der DNS ein (1o).

c) DMBA wirkt besonders toxisch auf die Ratten und hemmt deren DNS-Synthese (4o).

## Die Inhaltsstoffe der Placenta und Placenta-Passage

### 1) Die Inhaltsstoffe

In den grundlegenden Arbeiten von BERGER und HORNSTEIN (37) wurden qualitative und quantitative Verhältnisse verschiedener Stoffe in der Placenta dargestellt. Besonders berücksichtigt wurden: Wassergehalt und Trockenrückstand, anorganische Stoffe, Kohlenhydrate und Fette, Aminosäuren und andere Stoffe des Eiweißstoffwechsels, Proteine, serologische Eigenschaften, Enzyme, Vitamine und Hormone. Hierbei sind von besonderem Interesse Oestrogene, Progesteron und Corticoide. In der Placenta wurden drei natürliche Oestrogene isoliert: Oestron, Oestriol und Oestradiol. Jedes der drei Oestrogene kommt in der Placenta in drei Formen vor (45):
Als freies Oestrogen, als konjugiertes Oestrogen und als eiweißgebundenes Oestrogen.

### 2) Placenta-Passage

Die Schranke zwischen Mutter und Kind wird von nahezu allen Pharmaka überwunden (49). Auch die Anaesthetica, Hypnotica, Analgetica sowie die Lokalanaesthetica gelangen in den kindlichen Kreislauf, wenn sie der Mutter in klinisch gebräuchlicher Dosierung verabreicht werden (61). Die Chemotherapeutica und Antibiotica passieren in großem Ausmaß die Placenta. Auch die Herzglykoside, Diuretica, Antikoagulantien, Antihistaminica und Thyreo-

statica gehen vom mütterlichen auf den kindlichen Kreislauf über.

Viele Pharmaka können, wenn sie im Laufe der Schwangerschaft verabreicht werden, kindliche Schäden verursachen; so das Morphin, das Reserpin, die Chlorothiazid-Derivate, die Antikoagulantien, die Thyreostatica, das Chinin, die Zytostatica, einige Tuberculostatica, die Sulfonamide und das Streptomycin (61).

Beim paraplacentaren Weg in maternofetaler Richtung tritt die Substanz nach Passage der Eihäute, die die erste Barriere bilden, in das Fruchtwasser ein und muß dann noch den Magen-Darm-Trakt oder die Epidermis des Feten als zweite Barriere überschreiten, um in den Feten aufgenommen zu werden (38).

Bei der diaplacentaren Passage dienen das mütterliche und das kindliche Blut als Transportmedien, bei der paraplacentaren Passage neben dem maternen und fetalen Blut, zusätzlich noch das Fruchtwasser mit Urin (Darminhalt).

Abwehrleistungen der "Einheit Fetus und Placenta"

Die Bereitschaft zur Tumorbildung ist während der Fetalperiode sowie im Neugeborenen- und frühen Kindesalter ungewöhnlich selten (1, 2, 4, 33). Die diaplacentare Metastasierung eines Blastoms der Mutter ist ein äußerst seltenes Ereignis (56) wie HÖRMANN und LEMTIS (34, 35) aus den vom Weltschrifttum mitgeteilten Fällen berichten. Es ließ sich histologisch nachweisen, daß das Chorionepithel der Placenta gegenüber Carcinomzellen eine erstaunliche Abwehrleistung entfaltet. Der diaplacentare Übergang ist bisher nur für das Melanoblastom beschrieben worden.

Bei den in der Placenta beschriebenen "Krebsmetastasen" handelt es sich nicht um echte Tochtergeschwülste. Der Begriff "Placentametastasen" ist somit unzutreffend. Die bislang irrtümlicherweise zur Annahme von echten Tochtergeschwülsten in der Placenta verleitenden histologischen Kriterien sind lediglich Ausdruck eines intensiven Abwehrkampfes des Chorionepithels gegen die hämatogen verschleppten Zellkomplexe des mütterlichen Krebses.

Chemie der konjugierten Oestrogene

PRESOMEN (Kali-Chemie AG, Hannover (46)) enthält die Oestrogene aus dem Harn schwangerer Stuten, die voll wasserlöslich sind. Im Wirkstoff liegen die folgenden Oestrogene als Natrium-3-Monosulfat vor:

15 - 3o % Hydroxyoestro-1, 3, 5 (1o), 7-tetraen, 17-on (Equilin)

4o - 6o % Hydroxyoestra-1, 3, 5 (1o)-trien, 17-on (oestron)

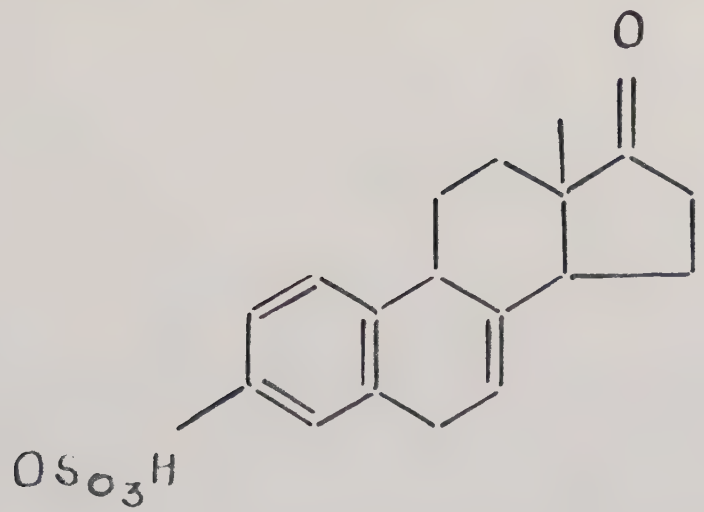
1o - 2o % (Oestra-1, 3, 5 (1o), 7-tetraen, 3, 17 alpha-diol (Dihydroequilin)

3 - 5 % Oestra-1, 3, 5 (1o), 3, 17-alspha-diol (Oestradiol)

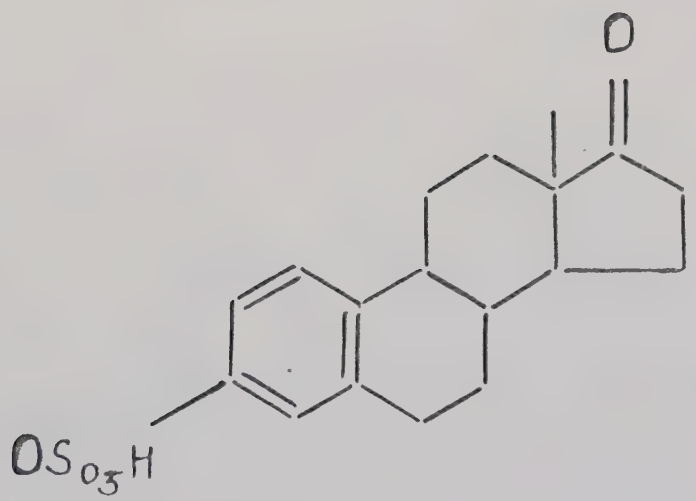
bis 15 % Hydroxyoestra-1, 3, 5 (1o), 6, 8-pentaen, 17-on (Equilenin)
und
Oestra-1, 3, 5 (1o), 6, 8-pentaen, 3, 17 alpha-diol (Dihydroequilenin)
und andere alpha- und beta-Oestrogene (o,7 %).

Die Oestrogene sind konjugiert, also an Schwefelsäure gekoppelt. Dies geschieht im tierischen Organismus.

Chemische Struktur der konjugierten Oestrogene:

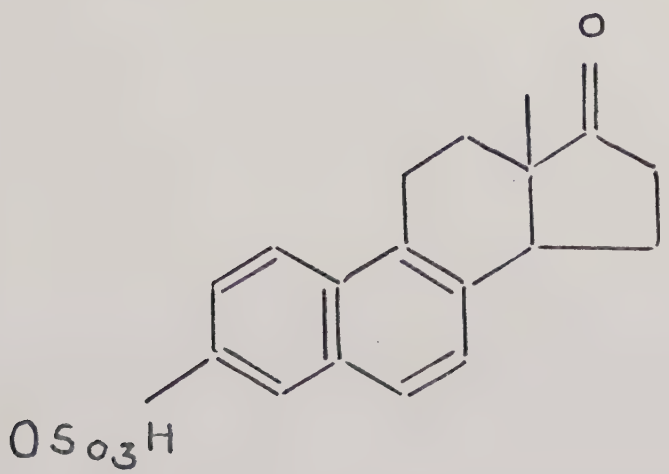



Equilinsulfat

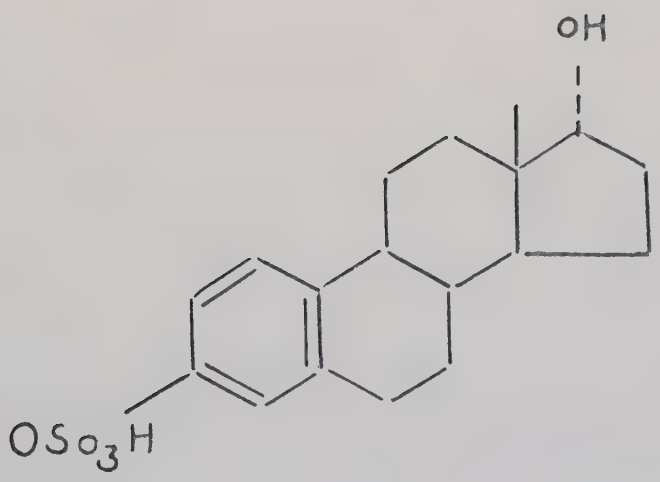



Oestronsulfat

Chemische Struktur der konjugierten Oestrogene:

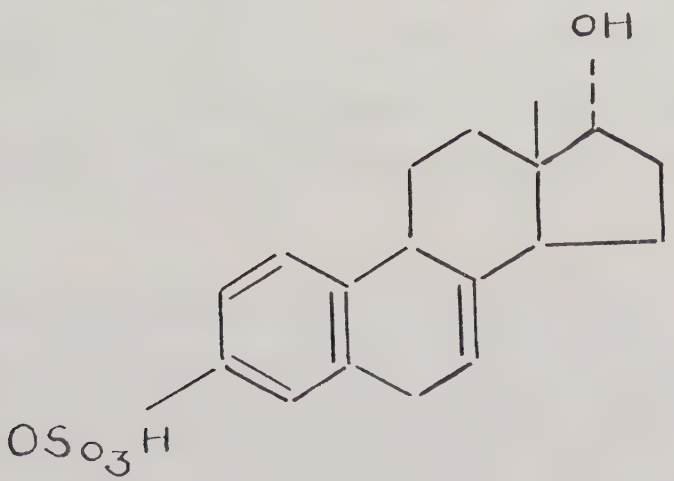



Equileninsulfat

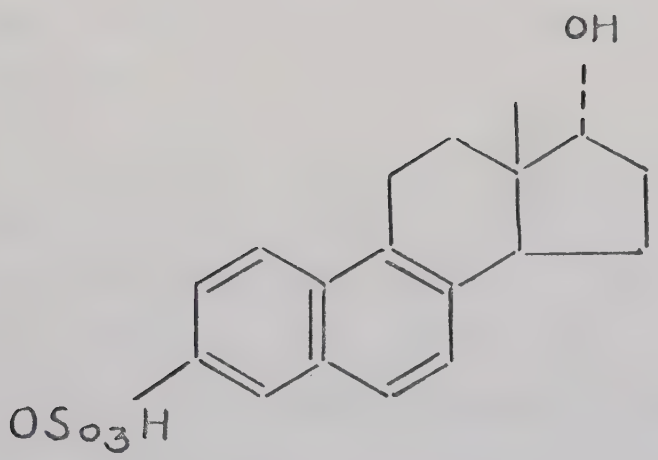



17-alpha-Oestradiolsulfat

Chemische Struktur der konjugierten Oestrogene:




17- alpha-Dihydroequilinsulfat




17-alpha-Dihydroequileninsulfat

ERGEBNISSE

In der vorliegenden Arbeit wurde die Abhängigkeit des Tumorwachstums von unterschiedlicher Konzentration polyzyklischer aromatischer Kohlenwasserstoffe wie 3,4-Benzpyren (1- und 2 %) und 7,12-Dimethylbenzanthracen (1-, 2- und 3 %) und ihre Beeinflußbarkeit durch Schwangerschaft und Oestrogenbehandlung im Tierexperiment untersucht.

Nach der Impfung von 3,4-Benzpyren und 7,12-Dimethylbenzanthracen wurden die Tiere regelmäßig untersucht, um den genauen Termin des Tumorauftretens (Induktionszeit) festlegen zu können.
(Siehe Tabelle I und III)

Die Häufigkeit der Tumorinduktion nimmt mit steigender Konzentration der carcinogenen Substanz zu. Dies zeigt sich nach Anwendung von 3,4-Benzpyren und 7,12-Dimethylbenzanthracen.

Bei Benzpyrentumoren ist eine Zunahme der Häufigkeit einer Tumorbildung von 25 % auf 57 %, bei einer Erhöhung der Konzentration des Carcinogens von 1 % auf 2 %, nachweisbar. In den gleichen Konzentrationsbereichen ist bei Dimethylbenzanthracen ein wesentlicher Unterschied in der Häufigkeit der Tumorbildung nicht erkennbar. Die Häufigkeit der Tumorinduktionen nach Anwendung 1 %igem und 2 %igem DMBA beträgt 53 % bzw. 57 %. Erst eine Steigerung der Konzentration des Cancerogens von 2 % auf 3 % führt zu einer deutlichen Vermehrung der Tumorinduktionen von 57 % auf 82 %.

(Siehe Tabelle I und III)

Eine Abnahme der mittleren Induktionszeit ist mit steigender Konzentration in allen Versuchsgruppen nachzuweisen. Dies ist bei den DMBA-Tumoren zwischen den mit 1 %igem und 2 %igem Cancerogen behandelten Tieren besonders deutlich in einer Abnahme von 94 auf 75 Tagen zu erkennen.
(Siehe Tabelle III)

Die Neubildung eines Tumors durch chemische Induktion mit 3,4-Benzpyren wird während der Schwangerschaft offenbar gehemmt. Kommt es aber in der Gravidität zu einem Tumorwachstum, so ist dieses beschleunigt. Die mittlere Induktionszeit ist bei Anwendung von 1 %igem BP deutlich um 29 Tage verkürzt gegenüber nicht schwangeren tumortragenden Tieren.
(Siehe Tabelle I)

Unter oraler Anwendung von konjugierten Oestrogenen ist die Tumorbildung durch 3 %iges Dimethylbenzanthracen offenbar gehemmt. Es wurde hierbei ein Rückgang der Tumorbildung von 82 auf 68 % beobachtet. Im Gegensatz zu dem Wachstum von Benzpyrentumoren bei schwangeren Tieren bewirken die Oestrogene eine Verlängerung der mittleren Induktionszeit.
(Siehe Tabelle III)

Chemisch induzierte Tumoren zeigen in der Schwangerschaft und bei der Anwendung von konjugierten Oestrogenen ein unterschiedliches Verhalten ihres Wachstums. Oestrogene hemmen die Neubildung und das Wachstum der Tumoren in gleicher Weise. Ein in der Schwangerschaft entstandener Tumor wächst schneller, wenn auch die Häufigkeit einer Neubildung niedriger ist als bei nicht graviden Tieren.

Ein Einfluß von 3,4-Benzpyren in 1 %iger Lösung war auf den Verlauf der Schwangerschaft, die Gesamtzahl der geborenen Tiere und auf die mittlere Wurfgröße nicht nachweisbar. Das subcutan injizierte Cancerogen, das 48 Stunden nach der Paarung verabreicht wurde, übte keine Keimschädigung aus. Die weitere Entwicklung der Jungtiere, die mit den Kontroll-Jungtieren bis zu ihrem natürlichen Tode verfolgt worden war, war unauffällig. (Siehe Tabelle II)

Tabelle I: Einfluß von Konzentration des Karzinogen und von Schwangerschaft auf das Wachstum von 3,4-Benzpyren.

| 3,4 Benzpyrenkonzentration | Dosis in mg | Zahl der Tiere: Gesamtzahl der Tiere | mit einseitig.Tu. | mit zweiseitig.Tu. | ohne Tu. | Zahl der Tu. | Tumorbildg. in % | mittlere Induktionszeit in Tagen | Tumor-Induktionen insgesamt |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 % | 2 x 1 | 85 | 23 | 1o | 52 | 43 | 25 | 152 | 17o |
| 2 % | 2 x 2 | 68 | 31 | 23 | 14 | 77 | 57 | 142 | 136 |
| 1 % plus Gravidität | 2 x 1 | 4o | 8 | 3 | 29 | 14 | 17 | 123 | 8o |

Tabelle II: Wurfgröße nach Tumor-Induktion durch 3,4-Benzpyren (1 %) 48 Stunden nach der Paarung.

| Gravide Tiere | Gesamtzahl der Tiere | Zahl der graviden Tiere | Gesamtzahl der geborenen Tiere | Mittlere Wurfgröße |
|---|---|---|---|---|
| Unbehandelt | 4o | 36 | 366 | 1o |
| 3,4-Benzpyren (1 %) | 4o | 35 | 315 | 9 |

Tabelle III: Einfluß der Konzentration von 7,12-Dimethylbenzanthracen und Oestrogen auf das Tumorwachstum.

| Konzentration von DMBA | Dosis in mg | Gesamtzahl der Tiere | Zahl der Tiere mit einseitig.Tu. | Zahl der Tiere mit zweiseitig.Tu. | Zahl der Tiere ohne Tu. | Zahl der Tu. | Tumorbildg. in % | mittlere Induktionszeit in Tagen | Tumor-Induktionen insgesamt |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 % | 2 x 1 | 125 | 38 | 47 | 4o | 132 | 53 | 94 | 25o |
| 2 % | 2 x 2 | 12o | 3o | 53 | 37 | 136 | 57 | 75 | 24o |
| 3 % | 2 x 3 | 85 | 16 | 62 | 7 | 14o | 82 | 64 | 17o |
| 3 % plus Östrogen (o,27 mg/kg/Wo) | 2 x 3 | 3o | 11 | 15 | 4 | 41 | 68 | 99 | 6o |

## DISKUSSION

Die chemische Induktion durch 3,4-Benzpyren und 7,12-Dimethylbenzanthracen ist konzentrationsabhängig. Die Häufigkeit der Tumorneubildung nimmt mit steigender Konzentration des Cancerogens zu. Die Zeit bis zum Nachweis einer histologisch gesicherten Tumorbildung von 1o mm Durchmesser nimmt mit steigender Konzentration ab.

Die Neubildung eines Tumors durch chemische Induktion mit 3,4-Benzpyren wird während der Schwangerschaft offenbar gehemmt. Kommt es aber in der Gravidität zu einem Tumorwachstum, so ist dieses beschleunigt. Wie BIERICH und ROSENBOHM (5, 6) in ihrer früheren Untersuchung über den Einfluß der Gravidität auf die Tumorrate und den Zeitpunkt des Tumorauftretens beim Mammacarcinom der Maus feststellten, wurde die Tumorrate durch die Gravidität nicht beeinflußt; dagegen wurde der Zeitpunkt bis zum Tumorauftreten durch die Gravidität verkürzt.

Da während der Gravidität eine gesteigerte Follikelhormonproduktion besteht und die experimentelle Zufuhr dieses Hormons (LACASSAGNE (48)) bei Tieren disponierter Stämme die Rate der Mammatumoren erhöht, war verständlich, daß in den Versuchen (6) mit Anstieg des Follikelhormonspiegels während der Gravidität die Tumorrate anstieg. Bei den Versuchen an virginellen Tieren sank die Tumorrate bei dem durch Fehlen von Graviditäten niedrigen Follikulinspiegel ab.

Bei unseren Untersuchungen kamen wir zu dem Ergebnis, daß die orale Anwendung von konjugierten Oestrogenen die Induktionsrate durch 3 %iges Dimethylbenzanthracen hemmen. DRUCKREY (23) schloß das Follikelhormon als krebserzeugenden Stoff aufgrund sehr umfangreicher Versuche an Ratten aus. Nach BIERICH und ROSENBOHM (6) ist die Carcinogenese davon abhängig, ob bei der exogenen oder endogenen Zufuhr von Follikelhormon im Gewebe eine Konzentration erreicht wird, die einen Schwellenwert über eine gewisse Zeit überschreitet.

Der unspezifische Einfluß der Oestrogene ist als "bedingt" krebsauslösend anzusehen (16). LIPSCHÜTZ (52) konnte bei Versuchen an Meerschweinchen (ohne Impfung einer carcinogenen Substanz), denen er über eine längere Zeit hohe Dosen von Oestrogenen verabreichte, Tumorbildungen an verschiedenen Organen beobachten. Es waren aber nur gutartige Neubildungen. Nach Absetzen der Oestrogenzufuhr bildeten sich die Tumoren zurück. Bis heute liegt kein einwandfreier Beweis dafür vor, daß Oestrogene als cancerogene Stoffe wirken können. Es kommt ihnen eine fragliche krebsauslösende Wirkung bei genetisch disponierten Tierstämmen zu (42).

Beim Menschen können Oestrogene das Wachstum eines bestehenden Mammacarcinoms beeinflussen (27, 47, 57, 64). Ob dagegen Oestrogene bei der Entstehung des Mammacarcinoms eine Rolle spielen, ist nicht gesichert (6, 23, 42).

Auch wenn trotz der vielseitigen Anwendung von Oestrogenen bisher keine Anhaltspunkte dafür vorliegen, daß damit eine, wenn auch geringe, Erhöhung der Mammacarcinommorbidität verknüpft ist, wird man im Einzelfall sicher nicht mit Bestimmtheit sagen können, daß ein vielleicht bestehendes klinisch nicht erkennbares Mammacarcinom in seinem Wachstum stimuliert werden könnte. Sicher wäre hierfür eventuell eine mehrjährige Applikation notwendig (53).

Auch die Frage, ob Ovulationshemmer einen Einfluß auf das Wachstum und die Entwicklung des Mammacarcinoms ausüben, ist nicht sicher zu klären. Wie die amerikanische Food and Drug Administration (FDA) hervorhob, liegen zur Beantwortung dieser Frage noch keine Studien vor.

Nach unseren Untersuchungen zeigen chemisch induzierte Tumoren in der Schwangerschaft und bei der Anwendung von konjugierten Oestrogenen ein unterschiedliches Verhalten ihres Wachstums. Oestrogene hemmen Neubildung und Wachstum der Tumoren in der gleichen Weise. Ein in der Schwangerschaft entstandener Tumor wächst schneller, wenn auch die Häufigkeit einer Neubildung niedriger ist, als bei nicht graviden Tieren. In diesem Zusammenhang muß auch die praktisch wichtige Frage von Mammacarcinom und Schwangerschaft besprochen werden. Es besteht noch die alte Auffassung, daß das Zusammentreffen von Brustkrebs und Schwangerschaft besonders ungünstig sei. Neuere Litera-

turübersichten zeigen (26), daß die Überlebensrate von Patientinnen, die während einer Schwangerschaft und der Laktation ein Mammacarcinom entwickeln, sehr gering sind (2o, 21, 22). Das liegt aber weniger daran, daß die Schwangerschaft nicht einen ungünstigen Einfluß auf den Verlauf der Erkrankung ausübt, sondern mehr daran, daß es sich überwiegend um fortgeschrittene Fälle handelte (53).

PETERS und MEAKIN (59) berichteten über eine Studie von 6o Patientinnen, bei denen nach Behandlung eines Mammacarcinoms eine Schwangerschaft aufgetreten war. Nachdem sie eine biostatisch angeglichene Kontrollgruppe gegenüberstellten, ergab die Überlebensrate bei den beiden Gruppen keinen Unterschied.

Andere Autoren vertreten die Ansicht, daß kein Grund vorliegt, nach einem behandelten operablen Mammacarcinom den Patientinnen von weiteren Schwangerschaften abzuraten (28, 36). Eine Wartezeit nach abgeschlossener Carcinomtherapie von zwei bis drei Jahren bis zum Eintreten einer Gravidität, ist jedoch zu empfehlen. Eine Schwangerschaftsunterbrechung wird nicht für notwendig gehalten.

Vielleicht helfen hier in der Zukunft Verfahren weiter, die die Hormonabhängigkeit eines Mammacarcinoms erkennen lassen. Nur bei hormonabhängigen Mammacarcinomen hätte

eine Ausschaltung der Ovarialfunktion überhaupt einen Sinn (53). In hormonabhängigen Mammacarcinoma findet eine spezifische Oestrogenbindung statt. Diese läßt sich durch Inkubation mit radioaktivem Oestradiol feststellen. Wie die Autoren in Untersuchungen an DMBA-Tumoren der Ratte feststellen konnten, läßt sich mit diesem Versuchsansatz die Hormonabhängigkeit prüfen (43).

Am stärksten war die Wirkung einer Kombination von Oestradiol und Progesteron. Das entspricht den Ergebnissen von HUGGINS (39), der bei den DMBA-Tumoren mit dieser Kombination die stärkste Wachstumshemmung erzielte. Bei unseren Untersuchungen wurde durch die orale Anwendung von konjugierten Oestrogenen die Tumorneubildung durch 3 %iges DMBA gehemmt.

ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurden die Abhängigkeit des Tumorwachstums von unterschiedlicher Konzentration polyzyklischer aromatischer Kohlenwasserstoffe, wie 3,4-Benzpyren und 7,12-Dimethylbenzanthracen und ihre Beeinflußbarkeit durch Schwangerschaft und Oestrogenbehandlung im Tierexperiment untersucht.

1) Die chemische Induktion durch 3,4-Benzpyren und 7,12-Dimethylbenzanthracen ist konzentrationsabhängig. Die Häufigkeit der Tumorbildung nimmt mit steigender Konzentration des Carcinogens zu. Die Zeit bis zum Nachweis einer histologisch gesicherten Tumorbildung von 1o mm Durchmesser nimmt mit steigender Konzentration ab.

2) Die Tumorentstehung ist in der Schwangerschaft und nach Anwendung von Oestrogenen herabgesetzt. Die Induktionszeit bis zum Tumornachweis ist in der Schwangerschaft verkürzt, nach der Anwendung von Oestrogenen verlängert.

3) Einen Einfluß von 3,4-Benzpyren in 1 %iger Lösung war auf den Verlauf der Schwangerschaft, die Gesamtzahl der neugeborenen Tiere und auf die mittlere Wurfgröße nicht nachweisbar. Die weitere Entwicklung der Jungtiere blieb ohne Keimschädigung.

LITERATUR

1. ANDERS, D., FRICK, R. u. KINDERMANN, G. : Metastasierendes Neuroblastom des Feten mit Aussaat in die Plazenta. Geburtshl. u. Frauenheilk. 11, (197o): 969 - 975

2. BACHMANN, K.D. u. KRÖLL, W. : Zur Frage der praenatalen Erkrankung an malignen Tumoren. Mschr. f. Kinderheilk. 116, (1968): 226 - 227

3. BAUER, K.H. : Das Krebsproblem. 2. Aufl. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1963, 2o8 - 224, 353 - 37o

4. BENDER, S. : Placental Metastases in malignant Disease complicated by Pregnancy, with Report of two Cases. Brit. J. Med. 29, (195o): 98o - 981

5. BIERICH, R. u. ROSENBOHM, A. : Die Beeinflußbarkeit des Zeitpunktes des Geschwulstauftretens bei Tieren eines krebsbereiten Stammes. Z.Krebsfsch. 5o, (194o): 387 - 389

6. BIERICH, R. u. ROSENBOHM, A. : Der Einfluß von Follikelhormon und lokaler Disposition auf die Brustkrebsentstehung bei der Maus. Z.Krebsfsch. 53, (1943): 57 - 64

7. BOYLAND, E. : The Role of Metabolism of Carcinogens in the Induction of Cancer and Adrenal Necrosis. In: Endogenous Factors influencing Host-Tumor-Balance, The University of Chicago Press (1967): 115 - 125

8. BROCK, N., DRUCKREY, H. u. HAMPERL, H. : Zur Wirkungsweise Cancerogener Substanzen. Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp.Path.Pharmak. 189 (1938): 7o9 - 311

9. BROCK, N. u. WILK, W. : Zur Ernährung der Laboratoriumstiere. 1. Mitteil. Altromin R eine Standard-Diät für Ratte und Maus. Arzneimittelfsch. 11, (1961): 1o71 - 1o85

1o. BROOKES, P. u. LAWLEY, P.D. : Evidence for the Binding of Polynuclear aromatic Hydrocarbons to the nucleic acids of the mouse Skin: Relation between carcinogenic power of Hydrocarbons and their binding to deoxyribonucleic acid. Nature 2o2, (1964): 781 - 84

11. CALCUTT, G. u. PAYNE, S. : The intracellular Metabolism of 3,4-Benzpyren: Studies of Rats-liver subjected to repeated doses of Benzpyren. Brit.J.Cancer 9, (1955): 426 - 433

12. CALCUTT, G. : The Intracellular Metabolism of 3,4-Benzpyren: Metabolism in the Kidneys and Skin of Rats and Mice. Brit. J. of Cancer 11, (1957): 6o5 - 61o

13. COOK, J.W. : Production of Cancer by pure Hydrocarbons. Proc.Royal Soc. (London) 111, (1932): 485 - 496

14. COOK, J.W., HEWETT, C. and HIEGER, J. : Coal-Tar Constitutes and Cancer. Nature (London) 13o, (1932): 926

15. COOK, J.W., KENNAWAY, E.L. and KENNAWAY, N.M. : Chemical Compouns as Carcinogenic Agents. First supplementary Report Literature of 1937. Amer.J.Cancer 29 (1933): 219 - 259

16. DANNENBERG, H. : Steranthren, eine neue Beziehung zwischen Steroiden und krebserzeugenden Kohlenwasserstoffen. Z.Krebsfsch. 62, (1957): 217 - 229

17. DAO, T.L. : Endocrine Enviroment and Neoplasma. In: Endogenous Factors influencing Host tumor balance. The University of Chicago Press 1967, 77 - 97

18. DAO, T.L. : The Rolle of ovarian hormons in intiating the Induction of Mammary-Cancer in Rats by Polynuclear Hydrocarbons. Cancer Res. 22, (1962): 973 - 981

19. DAO, T.L., BOCK, F. and CROUCH, S. : Level of 3-Methylcholanthrene in Mammary glands of Rats after intragastric Installation of Carcinogen. Proc.Soc.Expt.Biol.Med. 1o2, (1959): 635 - 638

2o. DAO, T.L., BOCK, F. and GREINER, M. : Mammary Carcinogenesis by 3-Methylcholanthrene. II Inhibitory effect of Pregnancy and Lactation on Tumor Induction. J.Natl.Canc.Inst. 25, (196o): 991 - 1oo3

21. DAO, T.L. and GREINER, M.J. : Mammary Carcinogenesis by 3-Methylcholanthrene. III. Induction of Mammary Carcinoma and Milk-secretion in Male Rats bearing ovarian Grafts. J.Natl. Cancer Inst. 27, (1961): 333 - 343

22. DAO, T.L. and SUNDERLAND, H. : Mammary Carcinogenesis by 3-Methylcholanthrene. I. Hormonalaspects in tumor Induction and Growth. J. Natl. Cancer Inst. 23, 567 - 585, (1959)

23. DRUCKREY, H. : Über Oestrogene und Cancerogene Wirkung. Z. Krebsfsch. 5o, (194o): 27 - 29

24. DRUCKREY, H., DANNEBERG, P. u. DISCHLER, W. : Reinzucht der Rattenstämme BD I, BD II, BD IV und Wistar II. Naturwissensch. 43, (1956): 166

25. DRUCKREY, H., DANNEBERG, P., DISCHLER, W. und STEINHOFF, D. : Reinzucht von lo Rattenstämmen (BD-Stämme) und Analyse der genetischen Pigmentierungssystems. Arzneimittelfsch. 12, (1962): 911 - 919

26. EWALD, R. : Mammary Carcinoma and Pregnancy. Acta.Obst.Gyn.Scand. 46, (1967): 316 - 326

27. GUMMEL, H., KRAATZ, H. u. BACIGALUPO, G. : Hormone in Genese und Therapie des Mamma-Carcinoms. Akademie Verlag Berlin, 1967

28. HAAGENSEN, C.D. : Cancer of the Breast in Pregnancy and during Lactation. Amer.J.Obst.Gyn. 98, (1967): 141 - 149

29. HECKER, E. : Die Bedeutung der Molekularbiologie für die Klärung der Genese des Krebses. Therapie Woche 19, (1969): 2415 - 2426

3o. HIEGER, I. : Fluorescence Spectrum of 3,4-Benzpyren. Amer.J.Cancer 29, (1937): 7o5 - 714

31. HIEGER, I. : Carcinogenic Activity of lipoid Substances. Brit.J.Cancer 3, (1949): 123 - 139

32. HIEGER, I., ORR, S.F.D. : On the Carcinogenic Activity of purified Cholesterol. Brit.J.Cancer 8, (1954): 274 - 29o

33. HÖRMANN, G. : Die Bedeutung der Plazentadiagnostik für Fetus und Neugeborenes. Mschr.Kinderheilk. 115, (1967): 127 - 13o

34. HÖRMANN, G. u. LEMTIS, H. : Zur Frage der diaplazentaren Metastasierung maligner Blastome der Mutter. Geburtsh.Gyn. 164, (1965): 1 - 8

35. HÖRMANN, G. u. LEMTIS, H. : Abwehrleistung der - Einheit Fetus und Plazenta- gegenüber hämatogen verschleppten Zellverbänden maligner Blastome der Mutter. Geburtsh. Gyn. 164, (1965): 129 - 142

36. HOLLEB, A.I. and FARROW, J.H. : The Relation of Carcinoma of the Breast and Pregnancy in 283 Patients. Surg.Gyn.Obst. (1962): 65 - 71

37. HORSTEIN, B. v. u. BERGER, M. : Die Inhaltsstoffe der Plazenta. Fortschr. Geburtsh.Gyn. 14, (1961): 47 - 7o

38. HÜTER, J., GROSSMANN, D. u. BRUNNENGRÄBER, M. : Paraplazentarer Stoffaustausch an menschlichen Eihäuten. Geburtsh.Frauenheilk. 3, (197o): 245 - 255

39. HUGGINS, C., BRIZIARELLI, G. and SUTTON, H. jr. : Rapid Induction of Mammary Carcinoma in the Rat and the influence of Hormones on the Tumors. J.Expl.Med. 1o9, (1959): 25 - 42

4o. HUGGINS, C., GRANT, L.C. and BRILLANTES, F. : Critical Significance of Breast Structure in the Induction of Mammary Cancer in the Rat. Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. 45, (1959): 1294 - 13oo

41. HUGGINS C. and MORII, S. : Selective adrenal Necrosis and Apoplexy induced by 7, 12 DMBA. J.Expl.Med. 114, (1961): 741 - 76o

42. IGEL, H. : Ovulationshemmer und Krebs. In: Hormone in Genese und Therapie des Mamma-Carcinoms. Akademie Verlag Berlin. 1967, 31 - 34

43. JENSEN, E.V., De SOMBRE, E.R. and JUNGBLUT, P.W. : Estrogen Receptors in Hormone-responsivetissues and Tumors. In: Endogenous Factors influencing host-tumor balance. The Uni.Chicago Press, 1967, 15 - 3o

44. JOOS, I. : Tierexperimentelle Untersuchungen zur Teratogenen Wirkung des Thiethylperazin ("Torecan", Sandoz) an trächtigen Ratten des Stammes BD II. Med.Diss. 1967, Saarbrücken

45. KAISER, R. u. GEIGER, W. : Untersuchung zur Differenzierung zwischen materner, plazentarer und embryonaler Hormonbildung. Geburtsh.Frauenheilk. 4, 3o8 - 316 (197o)

46. KALI-Chemie, hannover : Presomen: Chemie der konjugierten Oestrogene, eigene Mitteilung. (1966)

47. KENNEDY, B.J. : Hormone Therapy for advanced Breast-Cancer. Cancer 18, (1965): 1551 - 1557

48. LACASSAGNE, A. : A Relationship of hormones and Mammary adenocarcinom in Mouse. Am.J.Canc. 37, (1939): 414 - 424

49. LEMTIS, H. : Physiologie der Plazenta. Fortschr.Geburtsh.Gyn. 41, (197o): 36 - 37

5o. LIBBY, P.R. and DAO, T.L. : Rat Mammary Gland RNA: Incooperation of C14-formate and 7,12-DMBA. Science 153, (1966): 3o3 - 3o5

51. LIJINSKY, W., GARCIA, H., TERRACINI, B. and SAFFIOTTI, V. : Tumorigenic Activity of hydrogenated Derivatives of Dibenzanthracene. J.Natl.Cancer Inst. 34, (1965): 1 - 6

52. MARDONES, E., IGLESIAS, R., LIPSCHÜTZ, A. : Physiological action of 19, Norprogesterone in Guinea pig. Proc.Soc.exper.Biol.Med. 86, (1954): 451 - 453

53. MAASS, H. : Das Mamma-Carcinoma. Geburtsh.Frauenheilk. 28, (1968): 823 - 848

54. MIESCHER, G., ALSMASY, F. u. ZEHENDER, F. : Besteht ein Zusammenhang zwischen Benzpyrengehalt und der Carcinogenen Wirkung des Teers? Schweiz.med.Wschr. (1941): 1oo2 - 1oo7

55. MORELL, E. : In: BAUER, K.H., Das Krebsproblem. 2. Aufl. (1963): 353 - 37o

56. MÜHE, E. : Die Ätiologie der Schwangerschaftsspätgestosen als immunologische Abwehrreaktion der Mutter gegen individualfremde Antigene der Plazenta. Z. Geburtsh.Gyn. 172, (197o): 8o - 93

57. NOWASKOWSKI, H., RUHSTRAT, K. : Über den Wert einer Kombination von Oestrogenen und alkylierenden Substanzen bei der Behandlung des metastasierenden Mammakarzinoms der Frau. Deutsch.Med.Wschr. 91, (1966): 1775 - 1779

58. OBERLING, Ch., SANNIE, Ch., GUERIN, M. et GUERIN, P. : Recherches sur l'action Cancérigé ne du 1,2-Benzpyren. Bull.Ass.Franc.Etude Cancer 25, (1936): 156 - 18o

59. PETERS, V., MEAKIN, J.W. : The Influence of Pregnancy in Carcinoma of Breast. Progress in clin.Canc., Grune & Stratton, N.Y. 1965, 471 - 495

6o. SCHMÄHL, D. : Fortbildungstagung in praktischer Medizin. März 197o, Erlangen

61. SIECKE, G. : Über das Verhalten der einzelnen Pharmaka zur Plazentaschranke unter besonderer Berücksichtigung des Polyvinylpyrrolidon (PPV-Periston). Med. Diss. Berlin 1968

62. UFER, J. : Hormontherapie in Frauenheilkunde. Verlag Walter de Gryter & Co.,Berlin 1959, 131 - 141

63. WINTERSTEIN, A., VETTER, H. : In: BAUER, K.H. Das Krebsproblem. 2. Aufl. (1963): 353 - 37o

64. WISSLER, R.W., DAO, T.L. and WOOD, S. jr. : In: Endogenous Factors influencung Host-tumor balance. The University of Chicago Press 1967

65. YAMAGIWA und ICHIKAWA : In: HECKER, E. Die Bedeutung der Molekularbiologie für die Klärung der Genese des Krebses. Therapie Woche 19, (1969): 2415 - 2426

Zu aufrichtigem Dank bin ich Herrn Professor Dr. med. H. LIMBURG verpflichtet, in dessen Klinik mir die Durchführung dieser Arbeit ermöglicht wurde. Für die Formulierung des Themas der Arbeit, die freundliche Hilfsbereitschaft, die Anregungen, die vielen Hinweise und Ratschläge und die ständige Unterstützung für den Aufbau der experimentellen Arbeit, bin ich Herrn Privatdozent Dr. med. U. HECKMANN zu großem Dank verbunden. Nicht zuletzt möchte ich meinen Dank den Mitarbeitern im Gewebezuchtlabor und im Tierstall der Universitäts-Frauenklinik aussprechen, die mir bei der Zusammenstellung der Literatur und für die Durchführung der Versuche sehr behilflich waren.

LEBENSLAUF

Am 26. 4. 1937 wurde ich als Sohn des Dr.med. Natverlal A. PATHAK und dessen Ehefrau Vinoda in Ahmedabad/Indien, geboren. Mit 4 Jahren besuchte ich den Kindergarten und anschließend die Volksschule meiner Heimatstadt. Im Jahre 1947 verließ ich die Volksschule, um die Diwan Ballubhai High School zu besuchen. Im Frühjahr 1954 bestand ich die Schulabschlußprüfung. Im Sommer 1954 begann ich mein Studium an dem Gujerat College, wo ich im Jahre 1956 mein Abitur ablegte.

Nach dem Abitur setzte ich mein Chemie-Studium an der Gujerat Universität fort. Im Herbst 1958 kam ich in die Bundesrepublik Deutschland, um an der TH-Aachen Verfahrens-Technik zu studieren. Mein Interesse galt aber mehr der Medizin. Ich begann als Werkstudent Geld für das Medizin-Studium zu verdienen. Nach dem Praktikum begann ich im Wintersemester 1961/62 das Medizinstudium an der Universität Erlangen-Nürnberg, wo ich im Frühjahr 1963 mein Vorphysikum ablegte. Im Sommersemester 1964 setzte ich mein Studium an der Universität des Saarlandes fort, wo ich im Sommer 1965 mein Physikum ablegte. Anschliessend begann ich meine klinischen Semester in Homburg/Saar. Im Herbst 1968 legte ich mein medizinisches Staatsexamen ab.

Im Februar 1969 begann ich meine Medizinalassistentenzeit in dem Amerikanischen Militär-Hospital in Ramstein/Landstuhl. Zur Zeit arbeite ich an der Gynäkologischen-

Geburtshilflichen Abteilung des 26. Taktischen Hospitals und des 2. General Hospital in Landstuhl. Ich beabsichtige hier meine Ausbildung als Facharzt für Gynäkologie und Geburtshilfe zu beenden.